**Участие клеточных белков PARP1 и PARP2 в жизненном цикле ВИЧ-1**

***Белова У.Д.***

*Студентка, 6 курс специалитета*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: ulianaabelova@gmail.com*

Вирус иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) принадлежит к роду лентивирусов семейства ретровирусов. Он поражает иммунную систему человека и вызывает синдром приобретенного иммунодефицита. Геном ВИЧ-1 представлен одноцепочечной молекулой РНК, на основе которой вирусным ферментом обратной транскриптазой синтезируется ДНК, встраивается в геном клетки-хозяина вирусным ферментом интегразой. В зараженной клетке интеграза взаимодействует со многими клеточными белками-партнерами, которые влияют на ее работу и на эффективность репликации ВИЧ-1. Изучение клеточных партнеров интегразы является актуальной задачей. В настоящее время активно развивается подход к лечению вирусных заболеваний с помощью ингибиторов, нарушающих взаимодействие вирусных белков с клеточными партнерами. Ранее в нашей лаборатории был идентифицирован ряд новых потенциальных клеточных партнеров интегразы ВИЧ-1, один из которых белок PARP1. Он входит в семейство поли(АДФ-рибоза)полимераз и участвует во многих клеточных процессах. Есть также данные об участии PARP-1 в репликации ВИЧ-1, однако механизм его влияния неизвестен. При изучении влияния PARP1 на репликацию ВИЧ-1 использовался его низкомолекулярный ингибитор олапариб, который также является ингибитором другого члена семейства PARP - PARP2, поэтому наблюдаемые эффекты могут быть вызваны как PARP1, так и PARP2.

Настоящая работа посвящена изучению влияния белков PARP1 и PARP2 на ранние этапы жизненного цикла ВИЧ-1. Для этого были использованы псевдотипированные частицы на основе ВИЧ-1, содержащие репортерный ген люциферазы светлячка вместо генов, кодирующих вирусные белки и способные интегрировать его в клеточный геном. Клетки НЕК293Т дикого типа, с измененным уровнем PARP1 или PARP2, или в присутствии олапариба трансдуцировали псевдовирусными частицами. По уровню люминесценции лизатов оценивали влияние белков на эффективность обратной транскрипции и интеграции ВИЧ-1. Для кратковременного понижения внутриклеточного уровня белков (нокдауна) использовали специфические siРНК к мРНК PARP1 или PARP2. Для получения клеточных линий с долговременным нокдауном использовали shРНК к мРНК PARP1 и PARP2. Эффективность изменения уровня белков подтверждали с помощью Вестерн-блота. Для изучения влияния PARP1 и PARP2 на транскрипцию с вирусного промотора были использованы клетки НЕК293Т с уже интегрированным провирусом, стабильно экспрессирующие люциферазу.

Установлено, что ингибирование каталитической активности белков PARP1 и PARP2 низкомолекулярным ингибитором олапарибом снижает эффективность как ранних этапов репликации ВИЧ-1, так и транскрипции репортерного гена люциферазы. Это говорит о положительном влиянии каталитической активности этих белков на репликацию ВИЧ-1. Вместе с этим, при кратковременном уменьшении внутриклеточного уровня PARP1 такого снижения не наблюдается, а уменьшение внутриклеточного уровня PARP2 вызывает повышение эффективности ранних этапов репликации ВИЧ-1 и не влияет на транскрипцию с интегрированного провируса. Следовательно, необходимо более детальное исследование роли этих белков в жизненном цикле ВИЧ-1, в том числе на клеточных линиях с долговременным нокдауном PARP1 и PARP2. Необходимо также определить стадию репликации ВИЧ-1, на которую влияет олапариб и изменение внутриклеточного уровня PARP1 и PARP2.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-14-00073.*